

2型糖尿病がラット唾液腺の副交感神経性血管拡張反応に与える影響

著者	佐藤 寿哉, 石井 久淑
雑誌名	北海道医療大学歯学雑誌
巻	35
号	2
ページ	1-12
発行年	2016-12-31
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00064431/

〔原著〕

2 型糖尿病がラット唾液腺の副交感神経性血管拡張反応に与える影響

佐藤 寿哉, 石井 久淑

北海道医療大学歯学部口腔生物学系生理学分野

Influence of type 2 diabetes on parasympathetic vasodilation in salivary glands in rats.

Toshiya SATO, Hisayoshi ISHII

Division of Physiology, Department of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Key words : OLETF, Trigeminal-autonomic reflex, Laser speckle imaging, Hemodynamics

Abstract

We examined the hemodynamics in the major salivary glands during rest and electrical stimulation of the central cut end of the lingual nerve (LN) in urethane-anesthetized spontaneously-developed type 2 diabetic rats and nondiabetic control rats using a laser speckle imaging flow meter. The blood glucose level was significantly higher in diabetic rats than nondiabetic rats indicating the pathogenesis of diabetes. There was no significant difference between diabetic and nondiabetic rats in body and salivary gland weight. The resting blood flow in submandibular and sublingual gland was significantly lower in diabetic rats than that in nondiabetic rats. Although LN stimulation induced intensity- and frequency- dependent blood flow increases in salivary glands in both diabetic and nondiabetic rats, the magnitude of the blood flow increase in the parotid

gland of diabetic rats was significantly lower than that of nondiabetic rats. The blood flow increase in parotid gland was markedly inhibited by intravenous administration of the autonomic ganglion blockade hexamethonium or antimuscarinic agent atropine. Although intravenous administration of acetylcholine elicited the glandular blood flow increases in dose dependent manner, the response in parotid gland of diabetic rats was significantly lower than that in nondiabetic rats. Our results indicate that type 2 diabetes causes a reduction in submandibular and sublingual glands blood flow at rest and selectively impairs parasympathetic vasodilation in the parotid gland, and suggest that a disturbance in the cholinergic vasodilator pathway may contribute to impairment of parasympathetic vasodilation in parotid gland of diabetic rats.

抄 録

ウレタン麻酔した自然発症型の2型糖尿病ラットおよびコントロールラットの大唾液腺における安静時血流および舌神経の求心性電気刺激時の血流動態をレーザースペックルイメージング血流計を用いて検討した。血糖値はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に高く糖尿病の発症が確認された。体重、唾液腺重量に糖尿病ラットとコントロールラットの間で有意な差は認め

られなかった。顎下腺および舌下腺の安静時血流はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。舌神経刺激は糖尿病ラットおよびコントロールラットの唾液腺に刺激強度と頻度に依存した血流増加反応を誘発させたが、耳下腺における反応はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。耳下腺における反応は自律神経節遮断薬であるヘキサメソニウムおよびアトロピンの静脈内投与により著しく抑制され、アセチルコリンの静脈内投与は耳下腺に濃度依存的な血

流増加反応を誘発させたが、その反応はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった。我々の結果から2型糖尿病ラットにおける顎下腺および舌下腺の安静時血流の低下と耳下腺のコリン作動性副交感神経性血管拡張反応の低下が示され、糖尿病が耳下腺におけるコリン作動性血管拡張反応の反応経路に与える障害が耳下腺で誘発される副交感神経性血管拡張反応の低下に重要であることが示唆された。

緒 論

唾液の水成分は血漿に由来し、唾液分泌量は唾液腺血流量の影響を受けることから、唾液分泌における唾液腺血流動態の重要性が示唆されている (Hanna et al., 1999; Harrison et al., 2002; Lung, 1990, 1998; Proctor & Carpenter, 2007; Rourke & Edwards, 2000; Thakor et al., 2003)。唾液腺では口腔顎顔面領域を支配する三叉神経の感覚入力により反射性の唾液分泌と副交感神経性血管拡張反応が誘発される (Izumi & Karita, 1994; Mizuta et al., 2000; Sato & Ishii, 2015)。この血管拡張反応は唾液腺に急峻な血流増加を生じさせ、唾液分泌様式が異なる大唾液腺の間では血流増加量や反応機序が異なることから唾液腺の血流調節において重要な役割をはたしていると考えられる (Sato & Ishii, 2015)。

2型糖尿病は本邦の糖尿病患者の90%以上を占め、網膜症や腎症、末梢神経障害など様々な合併症を伴う。このうち口腔乾燥症は糖尿病患者の半数近くで認められ (Mortazavi et al., 2014)、唾液分泌量の減少は口腔内環境を悪化させ、う蝕や歯周疾患などの口腔内疾患を招きやすい (Leite et al., 2013)。糖尿病に伴う唾液分泌量の減少の原因としては糖代謝異常に起因する唾液腺の萎縮や微小循環障害などの器質的な変化、腺房細胞の各種受容体および細胞内シグナリングの障害、多尿による脱水などが考えられている (Saleh et al., 2015)。しかし、糖尿病が唾液腺血流動態に重要であると考えられる副交感神経性血管拡張反応に与える影響についてはよく知られていない。

本研究ではウレタン麻酔した2型糖尿病ラットおよびコントロールラットの唾液腺の安静時血流および三叉神経 (舌神経) を求心性に電気刺激することで誘発させた副交感神経性血管拡張反応をレーザースペックルイメージング血流計を用いて記録し、2型糖尿病が唾液腺の血流動態に与える影響について検討した。

方 法

1. 実験動物

実験には40～45週齢の自然発症型の2型糖尿病ラットである雄性OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラット (795～425 g) およびコントロールラットである雄性LETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラット (660～480 g) を用いた。糖尿病ラットおよびコントロールラットはワイヤーゲージ内にて昼夜12時間サイクルの環境下で飼育し、水と固形試料は自由摂取とした。血糖値はラットの尾静脈から微量の血液を採取し血糖値測定器 (Antsense Duo, HORIBA) を用いて測定した。空腹時血糖の測定ではラットは12時間前から絶食とした。ラットはイソフルレンで沈静化させウレタン (1 g/kg) を頸背部に皮下注射して麻酔した。大腿動脈と大腿静脈にカニューレを挿入しそれぞれ体幹血圧および心拍数の測定と各種薬物の投与を行った。気管切開にて挿管し、臭化パンクロニウム (0.6 mg/kg, ミオブロック; Organon Teknika, Netherlands) の静脈内投与により筋弛緩させ継続的に人工呼吸下 (酸素50%, 空気50%) で管理した。実験中は臭化パンクロニウムを持続投与 (0.4 mg/kg/hr) した。カプノメーター (Capnomac Ultima; Datex, Helsinki, Finland) を用いて終末呼気二酸化炭素分圧が35～40 mmHgとなるように人工呼吸器 (SN-480-7, シマノ) の1回換気量 (5.0～7.5 cm³/kg) および呼吸数 (20～30回/分) を調節した。ラットをヒーティングパッド上で仰臥位にし直腸温が37℃を維持するように調節した。頸部の正中を切開し、周囲の神経や血管の損傷を避けながら耳下腺、顎下腺および舌下腺を露出させた。実験終了後はペントバルビタール (ソムノペンチル; 共立製薬) の過量投与 (100 mg/kg以上) によりラットを安楽死させた。本研究は北海道医療大学動物実験規定に基づき、北海道医療大学動物実験センター管理運営委員会の審査並びに学長の承認を得て行った (承認番号: 第045号)。またすべての実験はNational Research Council guideに準拠して行った。

2. レーザースペックル血流イメージング

ラットの耳下腺、顎下腺および舌下腺の血流はレーザースペックルイメージング血流計 (OMEGAZONE; Omegawave) を用いて記録した。本血流計は秒単位で高解像度な二次元血流イメージングを描出する。組織に照射された半導体レーザー (780 nm) の散乱光をCCDカメラで撮影し、スペックル (斑点状の格子) 内の赤血球の数や移動速度の変化に基づくレーザー光線のドップラー効果を血流変化として測定する。血流変化は2次元画像 (638×480 pixel) で描出され、最短で約0.4秒ごとの連続測定が可能である。スペックル画像の解析では任

意に設定した観察範囲 (ROI: Region of Interest) に含まれる各々のスペックルが示す輝度の値の平均から相対的な血流値が算出される。レーザースペックルイメージングに関する詳細については最近の総説を参照されたい (Basak et al., 2012)。また下口唇の血流動態はレーザー Doppler 血流計 (FLO-C1, Omegawave) を用いて記録した。各測定部位における血流動態は血圧の変動による影響を避けるため血流量を平均血圧で除した血管コンダクタンスを算出し評価した。

3. 舌神経の電気刺激

唾液腺および下口唇の副交感神経性血管拡張反応は三叉神経 (舌神経) の電気刺激により誘発させた。舌神経は末梢側を切断し両極性電極を用いて求心性 (中枢性) に刺激した。刺激には電気刺激装置 (SEN-7103, 日本光電) を用い、2 msec 間隔にて各種刺激強度 (1-30 V) と刺激頻度 (1-30 Hz) で20秒間刺激した。刺激毎に15分間の間合いを置いた。すべての実験において頸部交感神経幹と迷走神経を頸部にて両側性に切断し、両神経の影響を排除した。

4. 各種薬物の投与

すべての薬剤は生理食塩水 (大塚製薬) に溶解して投与した。血糖値の変動が舌神経の電気刺激により唾液腺および下口唇で誘発される血流増加反応に与える影響を検討するためにウレタン麻酔時にインスリン (5単位, 和光純薬) を頸背部に皮下注射した。また舌神経の電気刺激により誘発される血管拡張反応が自律神経系およびムスカリン受容体を介した反応であるかを検討するために以下に示す薬物を静脈内投与した: ヘキサメソニウム (自律神経節遮断薬; 10 mg/kg, Sigma, St. Louis, MO), アトロピン硫酸塩 (ムスカリン受容体拮抗薬; 0.1 mg/kg, 三菱田辺), アセチルコリン (ムスカリン受容体作動薬; 10-1000 ng/kg, Sigma, St. Louis, MO)。ヘキサメソニウム, アトロピン硫酸塩およびアセチルコリンはそれぞれ0.1 ml量で投与後, 速やかに生理食塩水を1 ml投与することでカニューレ内から押し流した。1 mlの生理食塩水の投与は唾液腺の血流や体幹血圧に影響を与えなかった (data not shown)。ヘキサメソニウムの投与量は唾液腺で生じる副交感神経性血管拡張反応をほぼ完全

に抑制することが我々の研究で確認されている (Mizuta et al., 2000)。またアトロピン硫酸塩の投与量は舌神経刺激で生じる最大の血管拡張反応と同程度のアセチルコリンの静脈内投与で誘発される血管拡張反応を抑制するのに十分な量である (data not shown)。

5. 統計解析

すべての数値は平均値 \pm 標準誤差 (SE) で示した。平均値の差の検定は2群間の比較ではt検定を行った。また他群間の比較では分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った。危険率 $p < 0.05$ で有意差ありと判定した。統計解析にはSPSS Statistics23 (日本IBM) を用いた。

結 果

1. 血糖値と体重, 耳下腺, 顎下腺および舌下腺重量

コントロールラットおよび糖尿病ラットにおける麻酔導入前の空腹時血糖値と体重, 耳下腺, 顎下腺および舌下腺重量を表1に示す。麻酔導入前の空腹時血糖値はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に高かった。体重と耳下腺, 顎下腺および舌下腺重量にコントロールラットと糖尿病ラットの間で有意な差は認められなかった。

2. 安静時の顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇の血管コンダクタンス

コントロールラットおよび糖尿病ラットの安静時の顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスを図1A, BおよびCに示す。コントロールラットおよび糖尿病ラットの顎下腺と舌下腺の全体および耳下腺の一部のレーザースペックルイメージングが記録された (図1A)。コントロールラットおよび糖尿病ラットの安静時の血管コンダクタンスは一定で変動はなかった (図1B)。コントロールラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスはそれぞれ, 0.37 ± 0.03 , 0.49 ± 0.05 , 0.30 ± 0.03 , 0.09 ± 0.01 で有意な差が認められ [$F(3, 73) = 47.1$, $n = 11$, $P < 0.01$], 顎下腺の血管コンダクタンスと比較して舌下腺の血管コンダクタンスは有意に高く, 下口唇の血管コンダクタンスは有意に低かった (図1C, $P < 0.05$, ANOVA, Bon-

表1 体重, 血糖値および唾液腺重量

ラット	体重 (g)	血糖値 (mg/dl)	耳下腺 (mg)	顎下腺 (mg)	舌下腺 (mg)
コントロールラット	554.4 \pm 15.7	52.5 \pm 4.4	459.1 \pm 39.8	332.5 \pm 14.4	53.8 \pm 7.2
糖尿病ラット	537.5 \pm 82.9	165.7 \pm 11.1*	425.0 \pm 18.6	327.4 \pm 12.5	43.8 \pm 5.3

平均 \pm 標準誤差, * $P < 0.01$, コントロールラット vs 糖尿病ラット

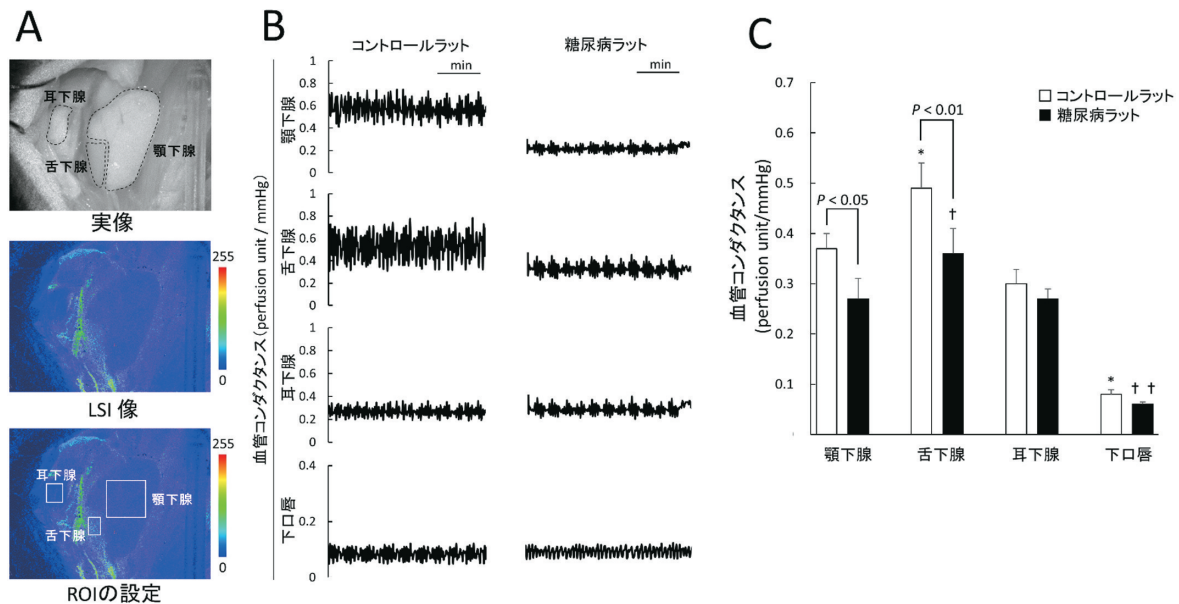


図 1. 安静時の顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇の血管コンダクタンス

(A) 顎下腺、舌下腺および耳下腺の実像とレーザースペックルイメージング像および各唾液腺に設定されたROIの位置. (B) 安静時のコントロールラットおよび糖尿病ラットの顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの経時変化の典型例. (C) コントロールラットおよび糖尿病ラットの顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇における安静時の血管コンダクタンスの平均±標準誤差 (n=11). 平均値の差の検定は分散分析を行い、その後にBonferroniテストを行った。* $P < 0.01$, vs. 顎下腺 (コントロールラット). † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$, vs. 顎下腺 (糖尿病ラット).

ferroni post-hoc test). 糖尿病ラットの顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスはそれぞれ、 0.27 ± 0.04 , 0.36 ± 0.05 , 0.27 ± 0.02 , 0.06 ± 0.00 で有意な差が認められ [$F(3, 73) = 28.5$, $n = 11$, $P < 0.01$], 顎下腺の血管コンダクタンスと比較して舌下腺の血管コンダクタンスは有意に高く、下口唇の血管コンダクタンスは有意に低かった (図 1C, $P < 0.05$). 顎下腺、舌下腺の安静時の血管コンダクタンスはそれぞれコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった (図 1C, 顎下腺; $n = 11$, $P < 0.05$, 舌下腺; $n = 11$, $P < 0.05$)

3. 舌神経刺激が顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスに与える影響

様々な刺激強度 (1~30 V) と刺激頻度 (1~30 Hz) の舌神経刺激で生じた顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの変化を図 2A, BおよびCに示す. 舌神経刺激はコントロールラットおよび糖尿病ラットの顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇に急峻な血流増加反応を誘発した (図 2AおよびB). 様々な刺激強度での舌神経刺激では顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスは、コントロールラットでは10 V以上の刺激で有意な変化が認められ [顎下腺; $F(5, 101) = 20.0$, $n = 10$,

$P < 0.01$, 舌下腺; $F(5, 101) = 20.8$, $n = 10$, $P < 0.01$, 耳下腺; $F(5, 98) = 58.9$, $n = 10$, $P < 0.01$, 下口唇; $F(5, 81) = 5.6$, $n = 7$, $P < 0.01$], 糖尿病ラットでは5ないし10 V以上の刺激で有意な変化が認められた [顎下腺; $F(5, 101) = 12.2$, $n = 9$, $P < 0.01$, 舌下腺; $F(5, 101) = 16.0$, $n = 9$, $P < 0.01$, 耳下腺; $F(5, 98) = 10.5$, $n = 9$, $P < 0.01$, 下口唇; $F(5, 81) = 4.3$, $n = 9$, $P < 0.01$] (図 2C). 耳下腺では20 V以上の刺激においてコントロールラットと糖尿病ラットの間で血管コンダクタンスの変化に有意な差が認められた (図 2C, $P < 0.01$). 様々な刺激頻度での舌神経刺激では顎下腺、舌下腺、耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスは、コントロールラットでは10 Hz以上の刺激で有意な変化が認められ [顎下腺; $F(5, 101) = 8.2$, $n = 10$, $P < 0.01$, 舌下腺; $F(5, 101) = 7.5$, $n = 10$, $P < 0.01$, 耳下腺; $F(5, 94) = 35.4$, $n = 10$, $P < 0.01$, 下口唇; $F(5, 81) = 4.1$, $n = 7$, $P < 0.01$], 糖尿病ラットでは5ないし10 Hz以上の刺激で有意な変化が認められた [顎下腺; $F(5, 101) = 5.2$, $n = 9$, $P < 0.01$, 舌下腺; $F(5, 101) = 6.5$, $n = 9$, $P < 0.01$, 耳下腺; $F(5, 94) = 4.1$, $n = 9$, $P < 0.01$, 下口唇; $F(5, 81) = 2.5$, $n = 9$, $P < 0.01$] (図 2C). 耳下腺では20 Hz以上の刺激においてコントロールラットと糖尿病ラットの間で血管コンダク

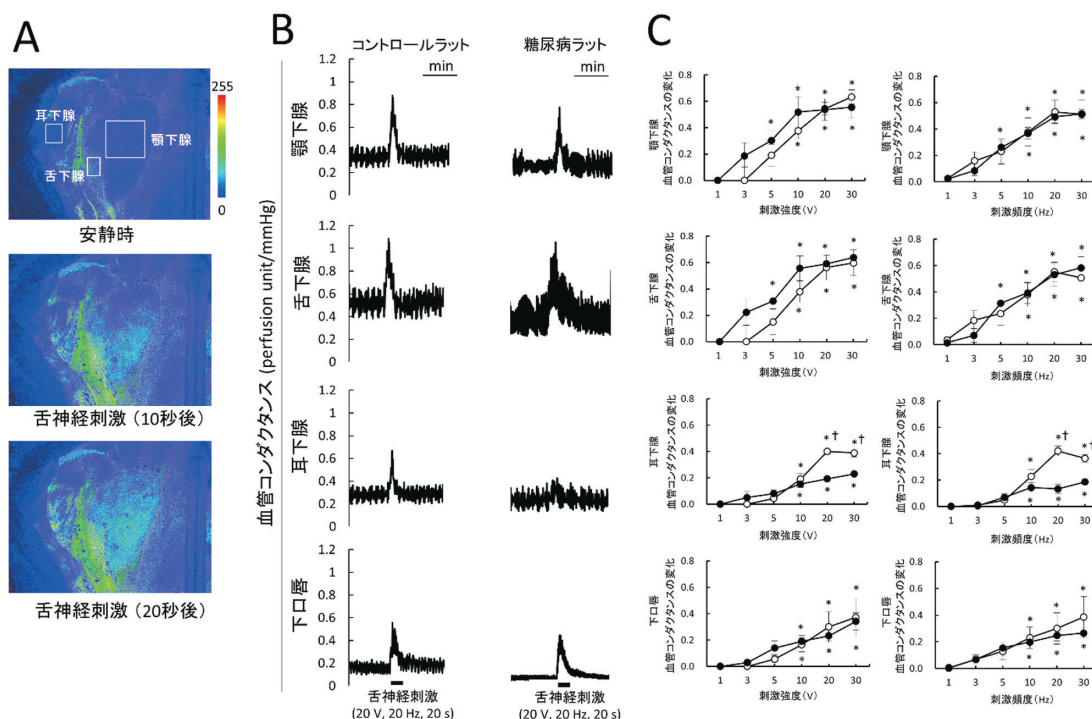


図2. 舌神経刺激が顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスに与える影響

(A) 舌神経刺激前, 刺激10秒後および20秒後の顎下腺, 舌下腺および耳下腺のレーザースペックルイメージング像の典型例。(B) 舌神経刺激によるコントロールラットおよび糖尿病ラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの経時的变化の典型例。(C) 各種刺激強度(1-30 V)および刺激頻度(1-30 Hz)におけるコントロールラット(○, n=10)および糖尿病ラット(●, n=9)の顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇の血管コンダクタンスの変化。各種刺激強度による刺激では刺激頻度は20 Hz, 各種刺激頻度による刺激では刺激強度は20 Vとし, 平均±標準誤差で示した。平均値の差の検定は分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った。* $P<0.01$, vs. 1 Vおよび1 Hz刺激時の血管コンダクタンスの変化。† $P<0.05$, コントロールラットvs糖尿病ラット。

表2 ウレタン麻酔時およびインスリンを共投与したウレタン麻酔時における血糖値の変化

ラット	血糖値 (mg/dl)		
	空腹時	ウレタン麻酔	ウレタン麻酔+インスリン
コントロールラット	52.5±4.4	265.9±29.8*	23.7±1.7†
糖尿病ラット	165.7±11.1	588.7±77.5*	191.0±39.1†

平均±標準誤差, * $P<0.01$, 空腹時vsウレタン麻酔, † $P<0.01$, ウレタン麻酔vsウレタン麻酔+インスリン

タンスの変化に有意な差が認められた(図2C, $P<0.01$)。

4. 血糖値の変動が舌神経で誘発される唾液腺の血流増加反応に与える影響

ウレタン麻酔前後およびインスリンを共投与したウレタン麻酔時における血糖値の変化を表2に示す。ウレタン麻酔はコントロールラットと糖尿病ラットの血糖値を有意に上昇させた(表2, コントロールラット; $P<0.01$, 糖尿病ラット; $P<0.01$)。この血糖値の上昇はウレタン麻酔時にインスリンを共投与することで有意に抑制されたが(表2, コントロールラット; $P<0.01$, 糖尿病ラット; $P<0.01$)。糖尿病ラットではインスリンによる血糖値抑制効果が低くインスリン抵抗性が認め

られた。ウレタン麻酔時およびインスリンを共投与したウレタン麻酔時において舌神経刺激により誘発される唾液腺の血管コンダクタンスの変化を図3AおよびBに示す。ウレタン麻酔したコントロールラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの変化はそれぞれ 0.52 ± 0.06 , 0.60 ± 0.05 , 0.42 ± 0.06 , 0.34 ± 0.09 で有意な差が認められ [$F(3, 44) = 1.78$, $n=7$, $P<0.05$]。下口唇の血管コンダクタンスの変化は顎下腺および舌下腺の変化と比較して有意に低かった(図3A, $P<0.05$)。インスリンを共投与してウレタン麻酔したコントロールラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの変化はそれぞれ 0.53 ± 0.09 , 0.58 ± 0.08 , 0.39 ± 0.09 , 0.40 ± 0.05 で有意な差は認められなかった(図3A)。ウレ

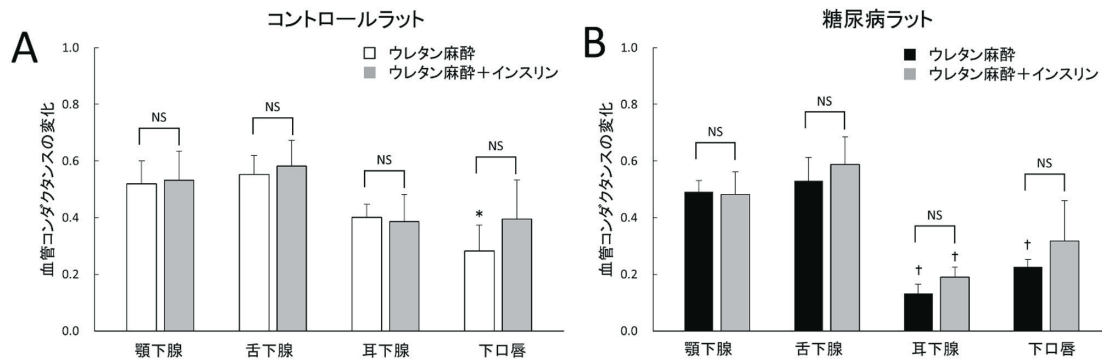


図3. 血糖値の変動が舌神経で誘発される唾液腺の血流増加反応に与える影響

(A) コントロールラットにおけるウレタン麻酔時 ($n=7$) およびインスリンを共投与したウレタン麻酔時 ($n=6$) の舌神経刺激 (20 V, 20 Hz, 20 s) で顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇で生じる血管コンダクタンスの変化。(B) 糖尿病ラットにおけるウレタン麻酔時 ($n=5$) およびインスリンを共投与したウレタン麻酔時 ($n=4$) の舌神経刺激 (20 V, 20 Hz, 20 s) で顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇で生じる血管コンダクタンスの変化の平均 \pm 標準誤差。平均値の差の検定は分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った。* $P<0.01$, vs. 顎下腺 (ウレタン麻酔), † $P<0.01$, vs. 顎下腺 (インスリン共投与ウレタン麻酔)。NS: 有意差なし。

タン麻酔時とインスリンを共投与したウレタン麻酔時における舌神経刺激による血管コンダクタンスの変化には有意な差は認められなかった (図3A)。ウレタン麻酔した糖尿病ラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの変化はそれぞれ 0.49 ± 0.04 , 0.53 ± 0.08 , 0.13 ± 0.03 , 0.33 ± 0.03 で有意な差が認められ [$F(3, 26) = 4.12$, $n=5$, $P<0.05$], 耳下腺および下口唇の変化が顎下腺および舌下腺の変化と比較して有意に低かった (図3B, $P<0.05$)。インスリンを共投与してウレタン麻酔した糖尿病ラットの顎下腺, 舌下腺, 耳下腺および下口唇における血管コンダクタンスの変化はそれぞれ 0.48 ± 0.08 , 0.59 ± 0.10 , 0.19 ± 0.04 , 0.32 ± 0.09 で有意な差が認められ [$F(3, 26) = 3.66$, $n=4$, $P<0.05$], 耳下腺の変化が顎下腺および舌下腺の変化と比較して有意に低かった (図3B, $P<0.05$)。ウレタン麻酔時とインスリンを共投与したウレタン麻酔時における舌神経刺激による血管コンダクタンスの変化には有意な差は認められなかった (図3B)。

5. 各種薬物が耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇の血流増加反応および血流動態に与える影響

ヘキサメソニウムおよびアトロピンの静脈内投与が舌神経刺激 (20 V, 20 Hz, 20 s) により誘発される耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇の血流増加反応に与える影響を図4AおよびBに示す。またアセチルコリンの静脈内投与が耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇の血流動態に与える影響を図4Cに示す。ヘキサメソニウムの静脈内投与は舌神経刺激によりコントロールラットおよび糖尿病ラットの耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口

唇で生じた血流増加反応を有意に抑制した [図4A, 耳下腺: コントロールラット; $5.9 \pm 5.1\%$, $F(1, 12) = 51.4$, $n=4$, $P<0.01$, 糖尿病ラット; $0.0 \pm 0.0\%$, $F(1, 12) = 57.9$, $n=4$, $P<0.01$, 顎下腺: コントロールラット; $11.6 \pm 6.6\%$, $F(1, 16) = 83.3$, $n=5$, $P<0.01$, 糖尿病ラット; $19.7 \pm 12.4\%$, $F(1, 16) = 68.8$, $n=5$, $P<0.01$, 舌下腺: コントロールラット; $25.3 \pm 16.5\%$, $F(1, 12) = 23.1$, $n=4$, $P<0.01$, 糖尿病ラット; $36.4 \pm 12.5\%$, $F(1, 12) = 16.8$, $n=4$, $P<0.01$, 下口唇: コントロールラット; $27.7 \pm 16.2\%$, $F(1, 12) = 31.1$, $n=4$, $P<0.01$, 糖尿病ラット; $14.5 \pm 7.5\%$, $F(1, 12) = 43.4$, $n=4$, $P<0.01$]。コントロールラットと糖尿病ラットの間でヘキサメソニウムの抑制効果に有意な差は認められなかった (図4A)。アトロピンの静脈内投与は舌神経刺激によりコントロールラットおよび糖尿病ラットの耳下腺, 顎下腺, 舌下腺で生じた血流増加反応を有意に抑制した [図4B, 耳下腺: コントロールラット; $21.8 \pm 12.6\%$, $F(1, 12) = 46.6$, $n=4$, $P<0.01$, 糖尿病ラット; $15.6 \pm 5.6\%$, $F(1, 12) = 54.3$, $n=4$, $P<0.01$, 顎下腺: コントロールラット; $34.2 \pm 23.0\%$, $F(1, 10) = 11.9$, $n=4$, $P<0.05$, 糖尿病ラット; $48.0 \pm 6.5\%$, $F(1, 10) = 9.9$, $n=4$, $P<0.05$, 舌下腺: コントロールラット; $73.4 \pm 24.9\%$, $F(1, 10) = 6.1$, $n=4$, $P<0.05$, 糖尿病ラット; $85.7 \pm 6.8\%$, $F(1, 10) = 6.4$, $n=4$, NS, 下口唇: コントロールラット; $84.5 \pm 20.7\%$, $F(1, 10) = 8.2$, $n=4$, NS, 糖尿病ラット; $76.4 \pm 5.8\%$, $F(1, 10) = 2.5$, $n=4$, $P<0.05$]。コント

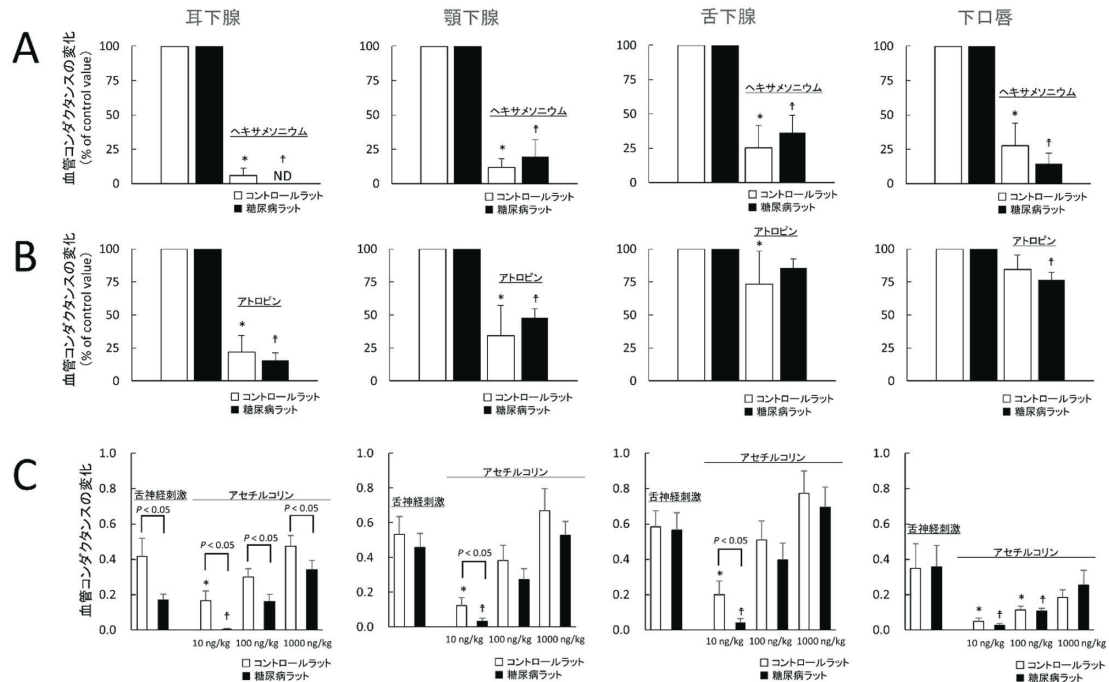


図4. 各種薬物が耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇の血流増加反応および血流動態に与える影響
(A) ヘキサメソニウムの静脈内投与が舌神経刺激でコントロールラットおよび糖尿病ラットの耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇で生じた血管コンダクタンスの変化の平均±標準誤差 (コントロールラット; $n = 5$, 糖尿病ラット; $n = 5$). 薬物投与前の舌神経刺激による血管コンダクタンスの変化を100%とする. 平均値の差の検定は分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った. * $P < 0.01$, vs. コントロール (コントロールラット), † $P < 0.05$, vs. コントロール (糖尿病ラット). (B) アトロピンの静脈内投与が舌神経刺激でコントロールラットおよび糖尿病ラットの耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇で生じた血管コンダクタンスの変化の平均±標準誤差 (コントロールラット; $n = 5$, 糖尿病ラット; $n = 5$). 薬物投与前の舌神経刺激による血管コンダクタンスの変化を100%とする. 平均値の差の検定は分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った. * $P < 0.01$, vs. コントロール (コントロールラット), † $P < 0.05$, vs. コントロール (糖尿病ラット). (C) アセチルコリンの静脈内投与により耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇で生じた血管コンダクタンスの変化の平均±標準誤差 (コントロールラット; $n = 5$, 糖尿病ラット; $n = 5$). 平均値の差の検定は分散分析を行い, その後にBonferroniテストを行った. * $P < 0.01$, vs. 舌神経刺激 (コントロールラット), † $P < 0.05$, vs. 舌神経刺激 (糖尿病ラット).

コントロールラットと糖尿病ラットの間でアトロピンの抑制効果に有意な差は認められなかった (図4B). アセチルコリン (Ach) の静脈内投与はコントロールラットおよび糖尿病ラットの耳下腺, 顎下腺, 舌下腺および下口唇の血管コンダクタンスを濃度依存的に変化させた [図4C, 耳下腺: コントロールラット, 舌神経刺激; 0.42 ± 0.10 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.17 ± 0.05 , 0.30 ± 0.05 , 0.47 ± 0.06 , $F(3, 44) = 5.6$, $n = 7$, $P < 0.01$, 糖尿病ラット, 舌神経刺激; 0.17 ± 0.03 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.01 ± 0.00 , 0.16 ± 0.04 , 0.34 ± 0.05 , $F(3, 44) = 6.9$, $n = 7$, $P < 0.01$, 顎下腺: コントロールラット, 舌神経刺激; 0.53 ± 0.10 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.12 ± 0.05 , 0.38 ± 0.09 , 0.67 ± 0.13 , $F(3, 44) = 6.5$, $n = 7$, $P < 0.01$, 糖尿病ラット, 舌神経刺激; 0.46 ± 0.08 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.03 ± 0.02 , 0.27 ± 0.06 , 0.53 ± 0.08 , $F(3, 44) = 6.6$, $n = 7$, $P < 0.01$, 舌下腺: コントロー

ラット, 舌神経刺激; 0.58 ± 0.09 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.20 ± 0.08 , 0.51 ± 0.11 , 0.77 ± 0.13 , $F(3, 44) = 4.5$, $n = 7$, $P < 0.01$, 糖尿病ラット, 舌神経刺激; 0.56 ± 0.10 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.04 ± 0.02 , 0.40 ± 0.10 , 0.69 ± 0.11 , $F(3, 44) = 7.2$, $n = 7$, $P < 0.01$, 下口唇: コントロールラット, 舌神経刺激; 0.35 ± 0.14 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.05 ± 0.02 , 0.11 ± 0.02 , 0.18 ± 0.04 , $F(3, 44) = 2.7$, $n = 7$, $P < 0.01$, 糖尿病ラット, 舌神経刺激; 0.36 ± 0.12 , Ach 10, 100, 1000 ng/kg; 0.03 ± 0.01 , 0.11 ± 0.02 , 0.25 ± 0.08 , $F(3, 44) = 4.6$, $n = 7$, $P < 0.01$]. 耳下腺における血管コンダクタンスの変化は10, 100, 1000 ng/kgのアセチルコリンの投与でコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった ($P < 0.05$). 顎下腺および舌下腺における血管コンダクタンスの変化は10 ng/kgのアセチルコリンの投与でコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かつ

た ($P < 0.05$).

考 察

40～45週齢の糖尿病ラットの空腹時血糖値は同週齢のコントロールラットと比較して有意に高く糖尿病の発症が認められた (表1). 体重と唾液腺重量にはコントロールラットと糖尿病ラットの間に有意な差は認められなかった (表1). 本研究に用いた糖尿病ラットは自然発症型の2型糖尿病モデルラットで5～12週齢を境界型糖尿病 (前糖尿病段階) のモデル動物として, 30～40週齢を糖尿病モデル動物として, 40週齢以降をさまざまな糖尿病合併症を伴う糖尿病モデル動物として用いられている (Hashimoto et al., 2009; Hosomi et al., 2002; Matsumoto et al., 2009). 本ラットは離乳直後から過食と内臓脂肪蓄積型肥満を認め, 25週齢でほぼすべての個体で経口ブドウ糖負荷試験によって糖尿病と診断され, 40週齢以降では体重は徐々に減少する (Kawano et al., 1992). この体重変動の傾向は我々の結果や50週齢以上まで飼育した我々の予備的実験の結果 (data not shown) とも一致しており, 本研究で用いた糖尿病ラットはこれまでに報告されている同系統のラットが発症した糖尿病と同様な病態経過をたどったと考えられる. ストレプトゾトシンの投与による実験糖尿病ラットでは顎下腺, 舌下腺および耳下腺の萎縮 (Stewart et al., 2016; Takai et al., 1983), 耳下腺におけるトリグリセライドと考えられる脂肪滴の蓄積 (Anderson & Garrett, 1986; Hand & Weiss, 1984) など唾液腺の器質的変化が報告されているが, 本研究に用いた糖尿病ラットの唾液腺に萎縮は認められなかった.

糖尿病ラットの顎下腺および舌下腺の安静時血流量はコントロールラットと比較して有意に低く, 耳下腺および下口唇の安静時血流にはコントロールラットと糖尿病ラットの間に有意な差は認められなかった (図1BおよびC). 組織における基礎血流量には毛細血管密度や血管壁に対する収縮性および拡張性のトーン調節が関与する. 唾液腺における毛細血管密度は顎下腺で最も高く, 舌下腺, 耳下腺の順に低い (Sato & Miyoshi, 1990). しかし, コントロールラットおよび糖尿病ラット唾液腺の安静時血流は顎下腺および耳下腺と比較して舌下腺で有意に高く (図1BおよびC), この結果は我々がこれまでにWistar系ラットで示した報告とも一致している (Sato & Ishii, 2015). したがって, 舌下腺における高い基礎血流量の機序や生理学的な意義については明らかにされていないが, 唾液腺における安静時血流調節機序の存在が示唆される. 基礎血流調節には交感神経血管収縮線維が

関与することが知られているが, 本研究では交感神経を頸部で切断しているため交感神経による血管収縮性トーン調節の影響は排除される. 一方, 我々はこれまでに口腔顔面領域における血管拡張性トーン調節の存在を示唆する報告をしている (Niioka & Ishii, 2013). この調節機序が唾液腺間で異なることが糖尿病による安静時血流に対する影響が唾液腺間で異なることと関係しているのかもしれない.

舌神経の求心性刺激は唾液腺に刺激強度と頻度に依存した血流増加反応を誘発し, 耳下腺における血管コンダクタンスの変化は20 V以上の刺激強度と20 Hz以上の刺激頻度ではコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低かった (図2A, BおよびC). ウレタン麻酔はラットの血糖値を著しく上昇させたが (表2), 血糖値の変動は舌神経刺激で唾液腺に生じる血管コンダクタンスの変化に影響を与えなかった (図3AおよびB). これらの結果から唾液腺の副交感神経性血流増加反応は糖尿病により耳下腺における反応が障害されることが示され, この障害は麻酔による一過性の血糖値上昇に起因するものではなく慢性的な高血糖による影響であることが示唆された. ウレタン麻酔は交感神経系を活性化させ血糖値を上昇させることが知られている (Reinert, 1964; Maggi & Meli, 1986). 我々はウレタン麻酔による血糖値の上昇は唾液腺の副交感神経性血流増加反応に影響を与えないことを示したが (図3AおよびB), 胃運動や胃酸分泌は麻酔による血糖値の上昇により抑制されることから研究対象によっては麻酔薬の選択が重要となる (Takeuchi et al., 1994). イソフルランやハロタン, セボフルランなどの吸入麻酔薬やバルビタール系の静脈麻酔薬を用いることで過度な血糖値の上昇を避けることができるが, これらの麻酔薬は口腔顔面領域で生じる体性-副交感神経反射血管拡張反応を著しく抑制するため本実験系には好ましくない (和泉, 1997). 本研究では唾液腺を支配する副交感神経性血管拡張線維を活性化させる方法として, 三叉神経 (舌神経) を求心性に電気刺激し脳幹の諸核を経由して反射的に副交感神経を活性化させる反射法を用いた. 本法は唾液腺を支配する副交感神経線維を遠心性に刺激する方法よりも唾液腺周囲組織への侵襲が少なく, 反射を用いることでより生理的に副交感神経線維を活性化させることが可能である. これまでに我々はこの方法を用いて口腔顔面領域における副交感神経性血管拡張反応の重要性を報告してきた (Ishii et al., 2005; Izumi & Karita, 1992; Sato & Ishii, 2015). 舌神経の求心性電気刺激で耳下腺に誘発される血流増加反応は低い刺激強度や刺激頻度の条件では非常に弱い反応で

あったことから、耳下腺の血流増加反応を誘発する感覚入力には顎下腺や舌下腺よりも限られることが示唆される。耳下腺に血流増加反応を生じさせる感覚入力については明確にされていないが、糖尿病ラットでは顕著な血流増加反応が認められた刺激強度と頻度（20–30 Vおよび20–30 Hz）における血流増加反応が抑制されたことから、糖尿病が耳下腺の血流増加反応に与える影響は非常に大きいと考えられる。

舌神経刺激による耳下腺、顎下腺、舌下腺および下口唇の血流増加反応は自律神経節細胞のアセチルコリン受容体（ニコチン受容体）に結合して興奮伝達を遮断するヘキサメソニウムとの投与により著しく抑制され、ムスカリン受容体拮抗薬であるアトロピンの投与により耳下腺および顎下腺の反応は抑制されたが舌下腺および下口唇の反応はほとんど影響を受けなかった（図4 AおよびB）。これらの結果は舌神経刺激で糖尿病ラットおよびコントロールラットの唾液腺および下口唇に生じる血流増加反応は、1）大部分が自律神経系を介した反応であるが自律神経系を介さない反応も部分的に含まれる、2）副交感神経性コリン作動性線維および非コリン作動性線維が関与することを示しており、我々がWistar系ラットを用いて示した結果と一致している（Izumi & Karita, 1992; Mizuta et al., 2000; Sato & Ishii, 2015; Takahashi et al., 1995）。自律神経系を介さない血管拡張反応としては唾液腺を支配する感覚神経線維による逆伝導性血管拡張の可能性が考えられるが、この反応に関する知見は少なく更なる検討が必要である（Izumi, 1999）。口腔顔面領域の副交感神経性血管拡張反応にはコリン作動性線維と非コリン作動性線維が関与するが、その関与は唾液腺によって異なり顎下腺の血管拡張反応には主にコリン作動性線維が関与する一方で舌下腺や下口唇の反応には非コリン作動性線維の関与が大きい（Sato & Ishii, 2015）。しかし動物種による違いもあり、コリン作動性と非コリン作動性血管拡張反応の関係性や生理学的意義は明確にされていない。

アセチルコリンの静脈内投与は耳下腺、顎下腺、舌下腺および下口唇に濃度依存的な血流増加反応を誘発したが、耳下腺に誘発された血管コンダクタンスの変化はコントロールラットと比較して糖尿病ラットで有意に低く、顎下腺および舌下腺における変化は10 ng/kgの投与ではコントロールラットよりも糖尿病ラットで低かったが、100, 1000 ng/kgの投与ではコントロールラットと糖尿病ラットの間に有意な差は認められなかった（図4 C）。したがって糖尿病が耳下腺におけるコリン作動性血管拡張反応に与える障害が舌神経刺激により耳下腺で

誘発される副交感神経性血管拡張反応の低下に重要であることが示唆された。また顎下腺および舌下腺におけるコリン作動性血管拡張反応の障害も示唆されたが、耳下腺では血管拡張反応の大部分をコリン作動性の反応に依存しているため糖尿病による障害の影響を強く受けることが考えられる。ストレプトゾトシン糖尿病ラットを用いた研究では唾液腺のムスカリン受容体の感受性の低下（Watanabe et al., 2001）、細胞内シグナルトランスダクションの変化（Yamamoto et al., 1996）、アセチルコリンエステラーゼの増加（Anderson & Garrett, 1994）、NOを介した血管拡張反応への影響（Anderson & Garrett, 2004）など受容体や細胞内シグナリングへの影響に関する報告があり、我々の研究結果はOLETFラットが発症する糖尿病においてもコリン作動性血管拡張反応への障害が重要であることを示唆している。

唾液腺の基礎血流量の減少や副交感神経性血管拡張反応の低下は副交感神経刺激による唾液分泌を減少させることから、唾液分泌と唾液腺血流動態との関係性が示唆されている（Hanna et al., 1999; Harrison et al., 2002; Lung, 1990, 1998; Rourke & Edwards, 2000; Thakor et al., 2003）。糖尿病患者を対象とした唾液分泌量に関する研究では、各々の実験方法が異なるため唾液腺ごとの分泌量を比較することは難しいが、全唾液として安静時唾液および刺激唾液の減少が示されていることは一致している（Bernardi et al., 2007; Chavez et al., 2001; Dodds et al., 2000; Izumi et al., 2015; Mata et al., 2004）。安静時唾液の分泌には顎下腺の関与が大きく、刺激唾液の分泌時には耳下腺の重要性が増すことが知られており（Ferguson, 1975）、本研究結果で示された糖尿病ラットの顎下腺および舌下腺の安静時血流量の低下と耳下腺の副交感神経性血流増加反応の低下（図1, 2）は、糖尿病における唾液分泌減少に唾液腺血流障害が重要であることを示唆している。糖尿病が唾液腺に与える影響については、これまでに腺房細胞や導管の器質的および機能的な変化に関する多くの知見が示されているが、糖尿病が唾液腺血流動態に与える影響に関するさらなる研究は唾液分泌障害のより詳細な機序の解明と新たな治療方法の確立に寄与することが期待される。

結 論

2型糖尿病ラットの唾液腺では顎下腺および舌下腺における基礎血流量の減少と耳下腺における副交感神経性血管拡張反応の低下が認められ、糖尿病に伴う口腔乾燥症の発症要因のひとつとして糖尿病が唾液腺血流動態に与える影響の重要性が示唆された。

謝 辞

本研究の一部は平成25年度北海道医療大学歯学会研究奨励金（研究テーマ名：2型糖尿病の唾液分泌障害機序の解明における唾液腺血流障害の関与）、平成25～27年度科学研究費補助金基盤研究C（課題番号25462896；石井久淑）、平成26～27年度科学研究費補助金若手B（課題番号26861557；佐藤寿哉）、平成28年度～科学研究費補助金若手B（課題番号16K20425；佐藤寿哉）からの助成を受けて実施された。

参考文献

- Anderson LC & Garrett JR. Lipid accumulation in the major salivary glands of streptozotocin-diabetic rats. *Arch Oral Biol*, 31(7), 469-475, 1986.
- Anderson LC & Garrett JR. The effects of streptozotocin-induced diabetes on norepinephrine and cholinergic enzyme activities in rat parotid and submandibular glands. *Arch Oral Biol*, 39(2), 91-97, 1994.
- Anderson LC & Garrett JR. Neural regulation of submandibular gland blood flow in the streptozotocin-diabetic rat: evidence for impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Arch Oral Biol*, 49(3), 183-191, 2004.
- Basak K, Manjunatha M & Dutta PK. Review of laser speckle-based analysis in medical imaging. *Med Biol Eng Comput*, 50(6), 547-558, 2012.
- Bernardi MJ, Reis A, Loguercio AD, Kehrig R, Leite MF & Nicolau J. Study of the buffering capacity, pH and salivary flow rate in type 2 well-controlled and poorly controlled diabetic patients. *Oral Health Prev Dent*, 5(1), 73-78, 2007.
- Chavez EM, Borrell LN, Taylor GW & Ship JA. A longitudinal analysis of salivary flow in control subjects and older adults with type 2 diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 91(2), 166-173, 2001.
- Dodds MW, Yeh CK & Johnson DA. Salivary alterations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and hypertension. *Community Dent Oral Epidemiol*, 28(5), 373-381, 2000.
- Ferguson DB. (1975). Salivary glands and Saliva. In: *Applied Physiology of the Mouth*, edited by Lavelle CLB. Bristol, UK: Wright, 1975.
- Hand AR & Weiss RE. (1984). Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab Invest*, 51(4), 429-440.
- Hanna SJ, Brelen ME & Edwards AV. Effects of reducing submandibular blood flow on secretory responses to parasympathetic stimulation in anaesthetized cats. *Exp Physiol*, 84(4), 677-687, 1999.
- Harrison AP, Cunningham ME & Edwards AV. Effects of endothelin on submandibular salivary responses to parasympathetic stimulation in anaesthetized sheep. *Auton Neurosci*, 99(1), 47-53, 2002.
- Hashimoto S, Yamada K, Kawata T, Mochizuki T, Schnermann J & Koike T. Abnormal autoregulation and tubuloglomerular feedback in prediabetic and diabetic OLETF rats. *Am J Physiol Renal Physiol*, 296(3), 598-604, 2009.
- Hosomi N, Noma T, Ohyama H, Takahashi T & Kohno M. Vascular proliferation and transforming growth factor-beta expression in pre- and early stage of diabetes mellitus in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Atherosclerosis*, 162(1), 69-76, 2002.
- Ishii H, Niioka T, Sudo E & Izumi H. Evidence for parasympathetic vasodilator fibres in the rat masseter muscle. *J Physiol*, 569(2), 617-629, 2005.
- 和泉博之. 自律神経研究における麻酔薬選択の重要性. *循環制御*, 18(3), 341-351, 1997.
- Izumi H. Nervous control of blood flow in the orofacial region. *Pharmacol Ther*, 81(2), 141-161, 1999.
- Izumi H & Karita K. Somatosensory stimulation causes autonomic vasodilatation in cat lip. *J Physiol*, 450, 191-202, 1992.
- Izumi H & Karita K. Parasympathetic-mediated reflex salivation and vasodilatation in the cat submandibular gland. *Am J Physiol*, 267(3), 747-753, 1994.
- Izumi M, Zhang BX, Dean DD, Lin AL, Saunders MJ, Hazuda HP & Yeh CK. Secretion of salivary statherin is compromised in uncontrolled diabetic patients. *BBA Clin*, 3, 135-140, 2015.
- Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M & Natori T. Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long - Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*, 41(11), 1422-1428, 1992.
- Leite RS, Marlow NM & Fernandes JK. Oral health and type 2 diabetes. *Am J Med Sci*, 345(4), 271-273, 2013.
- Lung MA. Variations in blood flow on mandibular glandular secretion to autonomic nervous stimulations in anaesthetized dogs. *J Physiol*, 431, 479-493, 1990.
- Lung MA. Autonomic nervous control of venous pressure

- and secretion in submandibular gland of anesthetized dogs. *Am J Physiol*, 275(2), 331–341, 1998.
- Maggi CA & Meli A. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. Part 1 : General considerations. *Experientia* 42, 109–114, 1986.
- Mata AD, Marques D, Rocha S, Francisco H, Santos C, Mesquita MF & Singh J. Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Mol Cell Biochem*, 261(1–2), 137–142, 2004.
- Matsumoto T, Ozawa Y, Taguchi K, Kobayashi T & Kamata K. Chronic treatment with losartan (angiotensin II type 1 receptor antagonist) normalizes enhanced acetylcholine-induced coronary vasoconstriction in isolated perfused hearts of type 2 diabetic OLETF rats. *J Smooth Muscle Res*, 45(5), 197–208, 2009.
- Mizuta K, Karita K & Izumi H. Parasympathetic reflex vasodilatation in rat submandibular gland. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279(2), 677–683, 2000.
- Mortazavi H, Baharvand M, Movahhedian A, Mohammadi M & Khodadoust A. Xerostomia due to systemic disease : a review of 20 conditions and mechanisms. *Ann Med Health Sci Res*, 4(4), 503–510, 2014.
- Nioka T & Ishii H. Effects of substance P on basal blood flow regulation in rat masseter muscle. *Dent J Health Sci Univ Hokkaido*, 32(1), 21–31, 2013.
- Proctor GB & Carpenter GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci*, 133(1), 3–18, 2007.
- Reinert H. Urethane hyperglycemia and hypothalamic activation. *Nature* 204, 889–891, 1964.
- Rourke K & Edwards AV. Submandibular secretory and vascular responses to stimulation of the parasympathetic innervation in anesthetized cats. *J Appl Physiol* (1985), 89(5), 1964–1970, 2000.
- Saleh J, Figueiredo MA, Cherubini K & Salum FG. Salivary hypofunction : an update on aetiology, diagnosis and therapeutics. *Arch Oral Biol*, 60(2), 242–255, 2015.
- Sato T & Ishii H. Differences in control of parasympathetic vasodilation between submandibular and sublingual glands in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 309(11), 1432–1438, 2015.
- Sato A & Miyoshi S. Morphometric study of the microvasculature of the main excretory duct subepithelia of the rat parotid, submandibular and sublingual salivary glands. *Anat Rec*, 226(3) : 288–294, 1990.
- Stewart CR, Obi N, Epame EC, Akbari AA, Halpern L, Southerland JH & Gangula PR. Effects of Diabetes on Salivary Gland Protein Expression of Tetrahydrobiopterin and Nitric Oxide Synthesis and Function. *J Periodontol*, 87(6), 735–741, 2016.
- Takahashi H, Izumi H & Karita K. Parasympathetic reflex salivary secretion in the cat parotid gland. *Jpn J Physiol*, 45(3), 475–490, 1995.
- Takai N, Uchihashi K, Yoshida Y & Kakudo Y. Salivational and histological damage of submandibular and sublingual glands in Streptozotocin-induced diabetic rats. *J Osaka Dent Univ*, 17(2), 65–72, 1983.
- Takeuchi K, Niida H, Ohuchi T & Okabe S. Influences of urethane anesthesia on indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. *Dig Dis Sci* 39(12), 2536–2542, 1994.
- Thakor AS, Brown CN & Edwards AV. Effects of prolonged reduction in blood flow on submandibular secretory function in anesthetized sheep. *J Appl Physiol* (1985), 95(2), 751–757, 2003.
- Watanabe M, Yamagishi-Wang H & Kawaguchi M. Lowered susceptibility of muscarinic receptor involved in salivary secretion of streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol*, 87(2), 117–124, 2001.
- Yamamoto H, Sims NE, Macauley SP, Nguyen KH, Nakagawa Y & Humphreys-Beher MG. Alterations in the secretory response of non-obese diabetic (NOD) mice to muscarinic receptor stimulation. *Clin Immunol Immunopathol*, 78(3), 245–255, 1996.



佐藤 寿哉

北海道医療大学歯学部口腔生物学系生理学分野 講師

平成20年 3 月 北海道医療大学歯学部 卒業

平成25年 3 月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程 修了（歯学博士）

平成25年 4 月 北海道医療大学歯学部生理学分野 助教

平成28年 4 月 北海道医療大学歯学部生理学分野 講師